

魚類の脂肪酸代謝、特に魚油高度不飽和酸の起原に関する研究

| | |
|-----|---|
| 著者 | 鹿山 光 |
| 号 | 1 |
| 発行年 | 1963 |
| URL | http://hdl.handle.net/10097/12552 |

| | |
|---------|-------------------------------------|
| 氏名・（本籍） | かやまみつ 鹿山光（栃木県） |
| 学位の種類 | 農学博士 |
| 学位記番号 | 農第1号 |
| 学位授与年月日 | 昭和38年6月13日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第2項該当 |
| 最終学歴 | 昭和28年3月 東北大学農学部卒業 |
| 学位論文題目 | 魚類の脂肪酸代謝、特に魚油高度不飽和酸の起源に関する研究 |
| 論文審査委員 | 教授（主査）土屋 站彦 教授 志村 憲助 教授 小柳 達男 |

論文内容要旨

魚油に関する従来の研究はその成分組成の分析と化学構造の解明に重点がおかれて、その生化学的研究は非常に寥々である。その結果、魚油の特長的成分の一つである高度不飽和酸についてもその代謝については殆んど何ら知られるところがない。ここにおいて著者はこれの解明を思いたち、特にその高度不飽和酸の起源に関して研究を進め、以下にのべるようないくつかの方法によつてリノール酸からアラキドン酸へおよびリノレン酸からエイコサペンタエン酸を経てドコサヘキサエン酸への変換経路のあることを魚類で始めて明らかにした。更にまたこれらの出発物となつているリノール酸およびリノレン酸についてもそれが主として植物プランクトン、動物プランクトン、

小動物、魚といった水界における一連の食物連鎖の過程を経て魚へ変換されながらとり込まれることを明らかにした。

以上の結果並びに既往の魚油から分離同定された多不飽和酸の構造を総合的に考察して、著者は新しく魚類における不飽和脂肪酸のいくつかの可能性ある変換経路を提示した。

I 魚類の脂肪酸吸収、移動および貯蔵に関する基礎的実験

ウレタンで軽く麻酔した1年鯉一尾あたり、綿実油に溶解したステアリン酸- ^{14}C 0.3ml (0.2771gm, 22,000cpm)をその前腸にポリエチレン、カテーテル法によつて注入し、経時的に魚体各部脂肪の比放射能を測定した。その結果腸での吸収は時間とともに上昇し、2時間で約30%、4時間で50%、6時間で70%に達し、10～12時間で80～90%の最高吸収を示した。また投与後10時間における吸収油の魚体各部への分布と貯蔵割合を求めると、水温22～25℃における鯉の腸吸収はネズミに比較して稍々劣る結果を得た。しかし温度差10℃以上での比較であるから本質的には大きい差とは考えられず魚の腸吸収は相当高いものと推察される。またこの実験から、外観的に胃のように見える鯉の前腸も実際には吸収作用のあることを明らかにした。

II 魚油の脂肪酸組成に関する分析法の比較

サンマ油の分析について以下の三法を行なつた。すなわち、その1は従来より用いられてきた脂肪酸のメチルエステル蒸留法である。その2はメチレン中断二重結合配置をとる多不飽和脂肪酸をアルカリ異性化して共役脂肪酸とし紫外部における吸収を測定して脂肪酸組成の分析を行なうアルカリ異性化法である。その3はガス(液)クロマトグラフ法である。(第1表、ガスクロマトグラフ法によるサンマ油の脂肪酸組成)

要するに以上の三法中、エステル蒸留法は鎖長別組成を明らかにできても不飽和度については特定鎖長をもつ脂肪酸の平均的値を示すだけであり、しかも蒸溜操作や特数測定の煩雑さに加えて多量の試料を必要とする等の難点があり、アルカリ異性化法

は試料が少量でよい利点と不飽和度にもとづく組成を知るのに好都合であるが、構成脂肪酸の鎖長については何等の知見も得られない。勿論ガスクロマトグラフ法にもなお問題はあつたが、一応構成脂肪酸夫々について定性並びに定量分析を可能にし、しかも μg 単位という少い試料で充分な分析が行なわれるという特徴は生化学的研究には現在最も勝れたものといえるので、以下にみられる脂肪酸分析はすべてガスクロマトグラフ法によつた。

Ⅲ 魚油構成脂肪酸に及ぼす飼料中のリノール酸、リノレン酸および飼育水温の影響

幼ボラ (*Mugil cephalus*) を試験魚に用い、脂質を含まない基本飼料に脂肪酸を添加して飼育試験を行なつた。その結果、魚を基本飼料で長期飼育すると魚油の特徴成分である高度不飽和酸の大部分が消失することを認めた。基本飼料に綿実油、亜麻仁油を添加すると、魚の脂肪酸組成は添加油のそれにある程度似てくるようにその組成を変化した。リノール酸、リノレン酸を飼料に5%添加した場合には抽出油のおよそ30%ものリノール酸およびリノレン酸を蓄積し、リノレン酸は幾分18:4に変換される傾向がみられ、15%のリノール酸の添加では実に43.7%の蓄積が見られた。しかしリノール酸およびリノレン酸の大量投与では、それら酸の貯蔵はみられてもそれらから高度不飽和酸への変換は認められなかつた。一方飽和酸を大量投与した場合は、多不飽和酸の高度不飽和酸への変換を認めることができた。次に23℃と、13℃の飼育水温を比較すると、低温の方がこの変換をより多く惹き起すように観察された。しかし得られた結果はリノール酸、リノレン酸の変換経路を夫々確定的にさせる程のものでなかつたから次の同位元素を用いる研究を行なうこととした。

Ⅳ アセテート- $1-\text{C}^{14}$ 投与による飽和酸、モノエン酸の生合成およびリノール酸からアラキドン酸への変換

Purina trout chow (養鱒飼料) で飼育した6尾のティラピア (*Tilapia mossambica*) に合計0.5mcのナトリウム、アセテート- $1-\text{C}^{14}$ 水溶液を腹腔注射し、6時間後に凍結死させてから油脂を抽出し、第1図に示す過程を経て目的脂肪酸を低

温分別結晶法、逆相カラムクロマトグラフ法および分離用ガスクロマトグラフ法を用いてパルミトオレイン酸、リノール酸およびアラキドン酸のメチル・エステルをそれぞれ単離した。

アラキドン酸はさらに水素添加してアラキジン酸としてから Dauben 反応を用いてカルボキシル基からの段階的減成を行なつた（第 2 表）。表の値からアラキジン酸の放射能分布をパーセントで表わすと次のようになる。すな $C_{18}H_{37}-CH_2-COOH$
23671

わち、大部分の放射能は C_1 に存在し、 $C_3 \sim C_{20}$ の間では 1 つの 2-炭素単位あたり 3% 以下 ($23 \div 9$) の少量の放射能が検出されるに過ぎなかつた。このことはリノール酸を四臭化物として再結して行くと殆んど放射能がなくなり、またその過マンガン酸カリ分解産物の示した少量の均一放射能分布と考え併せて、外因性のリノール酸に投与アセテート（カルボキシル標識）が一分子添加してアラキドン酸へ変換した証拠である。要するにこれよりアセテートを出発物として新しく、合成されるものは主として飽和脂肪酸とモノエン酸であり、魚類もリノール酸を合成しない。しかもその外因性リノール酸はアラキドン酸へ変換する。

V リノレン酸メチルー 1- C^{14} 投与によるリノレン酸からエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸への変換

魚油を特徴づける高度不飽和酸はリノレン酸系統のものが多くみられるから、魚類でのリノレン酸変換に関する実験を行なつた。

まずリノレン酸メチルー 1- C^{14} を亜麻仁油から合成（第 2 図）し、この標識リノレン酸メチルー 1- C^{14} を非活性のリノレン酸メチルで稀釈してスズキの一種 Kelp bass (*Paralabrax clathratus*) 3 尾に計 600mg、0.25mc 腹腔投与し、5 時間半低水温に放置してから凍結死させた。Kelp bass 油のガスクロマトグラムを第 3 図に示し、その脂肪酸組成を以下の低温分別区分とともに第 3 表に示す。目的とするエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸は原油にそれぞれ 9.9% および 16.9% 含まれていた。これをさらに低温分別結晶法を用いて分別すると、 $-60^{\circ}C$ 可溶性区分にそれらがそれぞれ 19.4% および 36.4% 程度に濃縮された。さらにこの区分

を逆相クロマトグラフ法によつて溶出すると、A-50 (1) 画分からエイコサペンタエン酸が74.9%またA-50 (2) 画分からドコサヘキサエン酸が71.9%と濃縮され、それぞれの画分で同鎖長のホモログが含まれていないことを確かめたから、それぞれの画分を水添して前者の画区からアラキジン酸を、また後者の画分からベヘニン酸を夫々逆相クロマトグラフ法によつて単離した。こゝに得られたアラキジン酸およびベヘニン酸はそれぞれエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸に由来するものであるから、これら酸を別々にカルボキシル基からマーガリン酸まで段階的に減成を行なつた。(第4表)。これからアラキジン酸およびベヘニン酸分子における放射能分布をパーセントで表わすと、

| | | | | | | |
|-------------------|--|----|---|---|----|----|
| アラキジン酸 | $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{16} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$ | | | | | |
| (エイコサペンタエン酸を水添した) | 27 | 64 | 2 | 7 | | |
| ベヘニン酸 | $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{16} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$ | | | | | |
| (ドコサヘキサエン酸を水添した) | 19 | 41 | 1 | 6 | 11 | 22 |
| | 28 | 61 | 2 | 9 | | |

すなわち、最も高い放射能はアラキジン酸で3番目の炭素に、またベヘニン酸で5番目の炭素に見出された。これらの炭素は投与リノレン酸-1- C^{14} のカルボキシル炭素に相当するから、両方の酸がリノレン酸から誘導されて生じたことを示している。さらにベヘニン酸のメチル基からの20炭素にみられる放射能分布はアラキジン酸の相対部分の放射能に近似した分布を示しエイコサペンタエン酸がドコサヘキサエン酸へとり込まれたことを示している。その結果、リノレン酸のエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸への可能な代謝として第4図に示される変換経路を提出した。

VI プランクトンの脂肪酸組成および水界のモデル食物連鎖過程に見られる

脂肪酸の変換

純粋に培養した植物プランクトン *Platymonas* sp. の構成脂肪酸を分析すると、その組成は今迄に分析した何れの魚油脂脂肪酸組成にも似ていない。むしろ陸上植物油に似ていて特記すべきことは、リノール酸およびリノレン酸を相当量含有していることである。すなわちこのことは、前章までに述べてきたように魚油高度不飽和酸の親酸

が植物プランクトンに存在する意義を示すものと考える。また湾内で同一時刻に同一地点より植物プランクトンおよび動物プランクトンをネットで採集して、それらの脂肪酸組成を比較したところ、植物プランクトン中に見られた殆んどすべての脂肪酸が動物プランクトン中に検出されたが、後者にはさらに長鎖長の高度不飽和酸が存在することを見た。もしこゝに採集された動物プランクトンがそこにいた植物プランクトンを捕食していたものと仮定すると、この食物連鎖の過程で脂肪酸の変換が行なわれたとみてよい。従つてこの仮定を証明するために水界食物連鎖のモデル実験として、Chaetoceros simplex → Artemia salina → Lebistes reticulatus の過程を脂肪酸分析から追跡してみた。各段階での脂肪酸組成を示すガスクロマトグラムを第5図に示す。

キトセラスによつて、生合成された脂肪酸は動物プランクトン、アルテミアに利用、蓄積されるとともに、キトセラスで検出されなかつたアラキドン酸およびエイコサペンタエン酸がアルテミア油脂に見られ、さらにグツビーではこれら高度不飽和酸の外にもドコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸が認められて魚油脂肪酸の典型的組成を示した。

以上の結果をさらに総合的に考察するため、第6図に示される魚類での可能な変換経路、すなわち魚油高度不飽和酸の来歴図式を想定した。今日までに魚油から分離同定された多不飽和酸をまとめて第5表に示す。メチル基から数えた最初の二重結合の位置を注意してみると、 C_{18} 以上の多不飽和酸は3、6、9から始まるものに分けることができよう。それで第5表に示される多不飽和酸を鎖長別にまとめて、メチル基から数えて同じ最初の二重結合位置をもつものを縦線で結んでみると第6図の主要部ができた。図の中でリノール酸からアラキドン酸への代謝はMeadらによつて提出された変換経路と全く一致しているもので、魚類でも確かめられたものである。またリノレン酸がエイコサペンタエン酸にインコーポレートし後者がさらにドコサヘキサエン酸へ変換されていく経路も全く同じように図中に示されている。さらにオレイン酸の変換については、ネズミを脂肪欠乏の飼料で飼育するときエイコサトリエン酸が生ずると報告されているから、魚類においてもこのコースが行なわれる可能性が非常に強いといえよう。図中 C_{16} 不飽和酸の処理は単なる類推に過ぎないが、植物プランク

トン油中にこの親酸ともいえるものが認められている。したがって魚類に認められる高度不飽和酸はオレイン酸、リノール酸、リノレン酸から変換されて生ずるものが主であつて、その他パルミトオレイン酸を含んだ C_{16} 不飽和酸の変換によつて生ずるものもあると考えられる。

第1表 サンマ油の脂肪酸組成

(1960年産)

| 脂 肪 酸 | 組 成 % |
|-------------|-------|
| 12:0 | 痕 跡 |
| 14:0 | 10.9 |
| 15:0 (14:1) | 1.0 |
| 16:0 | 13.5 |
| 16:1 | 5.8 |
| 18:0 | 1.4 |
| 18:1 | 4.8 |
| 18:2 | 1.3 |
| 20:0 | 0.3 |
| 20:1 (18:3) | 17.5 |
| 18:4 | 4.3 |
| 20:2 | 痕 跡 |
| 20:3 | 痕 跡 |
| 20:4 (22:1) | 17.3 |
| 22:2 | 2.0 |
| 20:5 | 5.6 |
| 22:4 | 1.2 |
| 22:5 ? | 1.5 |
| 22:5 | 1.4 |
| 22:6 | 10.1 |

第2表 アラキジン酸（アラキ

ドン酸を水添した）の
Dauben 減成産物の比
放射能

| 減 成 産 物 | dps/mg |
|------------|--------|
| アラキジン酸 | 664 |
| ノナデカン酸 | 152 |
| ステアリン酸 | 165 |
| C_1 安息香酸 | 521 |
| C_2 安息香酸 | 32 |

第3表 Kelp bass 油およびその混合脂肪酸の低温
分別結晶による各区分の脂肪酸組成

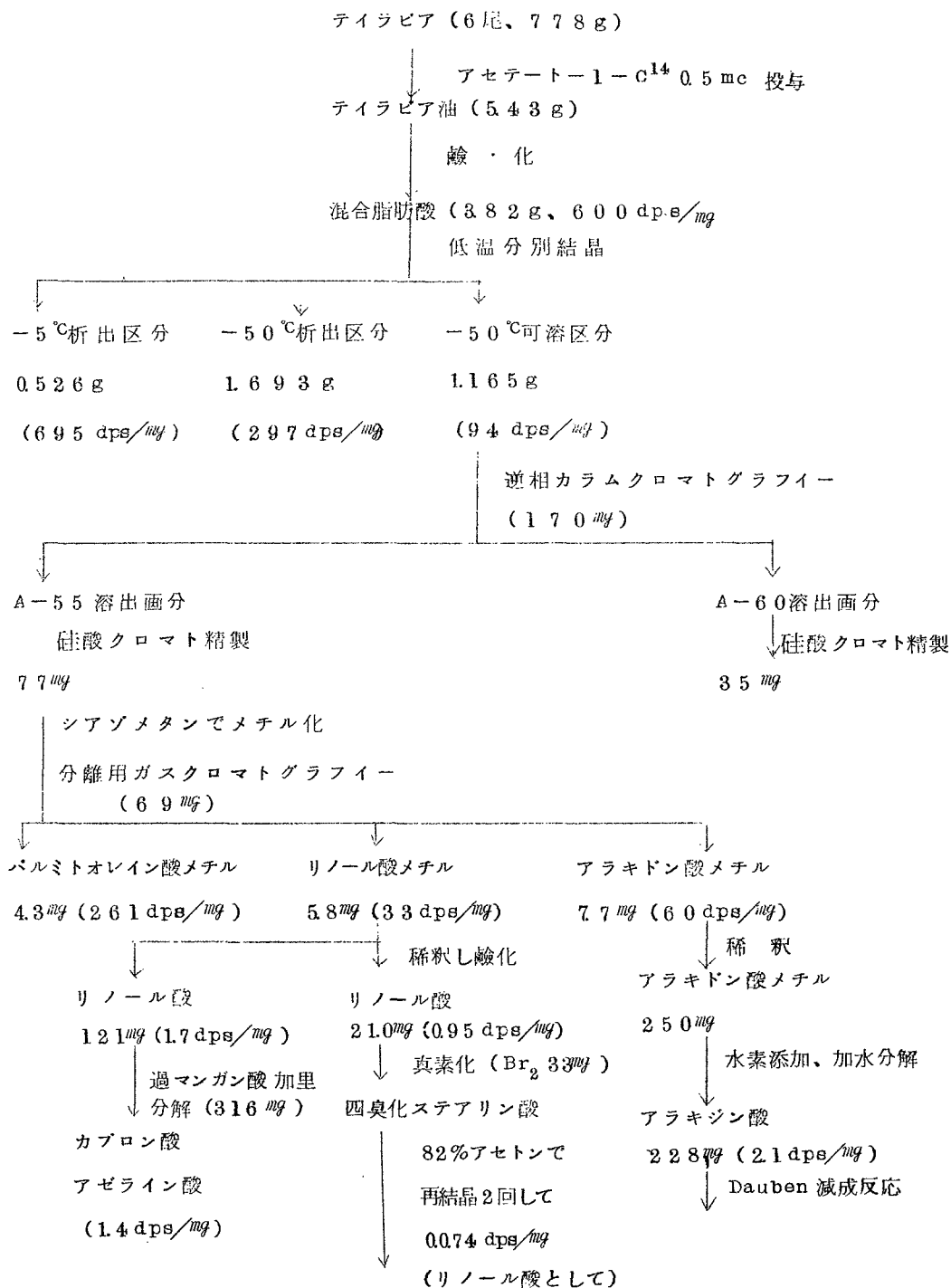
| 脂肪酸 組成% | Kelp bass 原油 | 低温分別結晶 | | |
|------------|--------------------|-----------|------------|------------|
| | | -5°C 析出区分 | -60°C 析出区分 | -60°C 可溶区分 |
| 14:0 | 7.7 | 4.8 | 8.1 | 1.0 |
| 14:1(15:0) | 痕跡 | 0.3 | | 0.5 |
| 16:0 | 27.3 | 55.0 | 9.3 | |
| 16:1 | 9.9 | 4.5 | 10.1 | 9.6 |
| 16:2 | 痕跡 | 0.9 | | 1.2 |
| 18:0 | 3.4 | 10.1 | 1.2 | 0.6 |
| 18:1 | 14.5 | 8.2 | 32.7 | 9.7 |
| 18:2 | 1.6 | 1.2 | 2.6 | 4.2 |
| 18:3 | 1.2 | 1.0 | 1.1 | 2.0 |
| 18:4(20:1) | 2.5 | 1.2 | 3.1 | 3.8 |
| 20:2 | 0.2 | 痕跡 | 0.5 | |
| 20:3 | 0.1 | | 0.2 | |
| 20:4 | 1.3 | 0.7 | 1.6 | 2.8 |
| 22:1 | 1.0 | 0.5 | 1.0 | 1.7 |
| 20:5 | 9.9 | 4.0 | 9.8 | 19.4 |
| 22:4 | 0.6 | 0.3 | 0.8 | 2.2 |
| 22:5 ? | 0.2 | 0.1 | 0.3 | 1.0 |
| 22:5 | 1.8 | 0.9 | 2.4 | 4.2 |
| 22:6 | 16.9 | 6.4 | 15.1 | 36.4 |

第4表 アラキジン酸およびベヘニン酸の Dauben 減成産物の比放射能

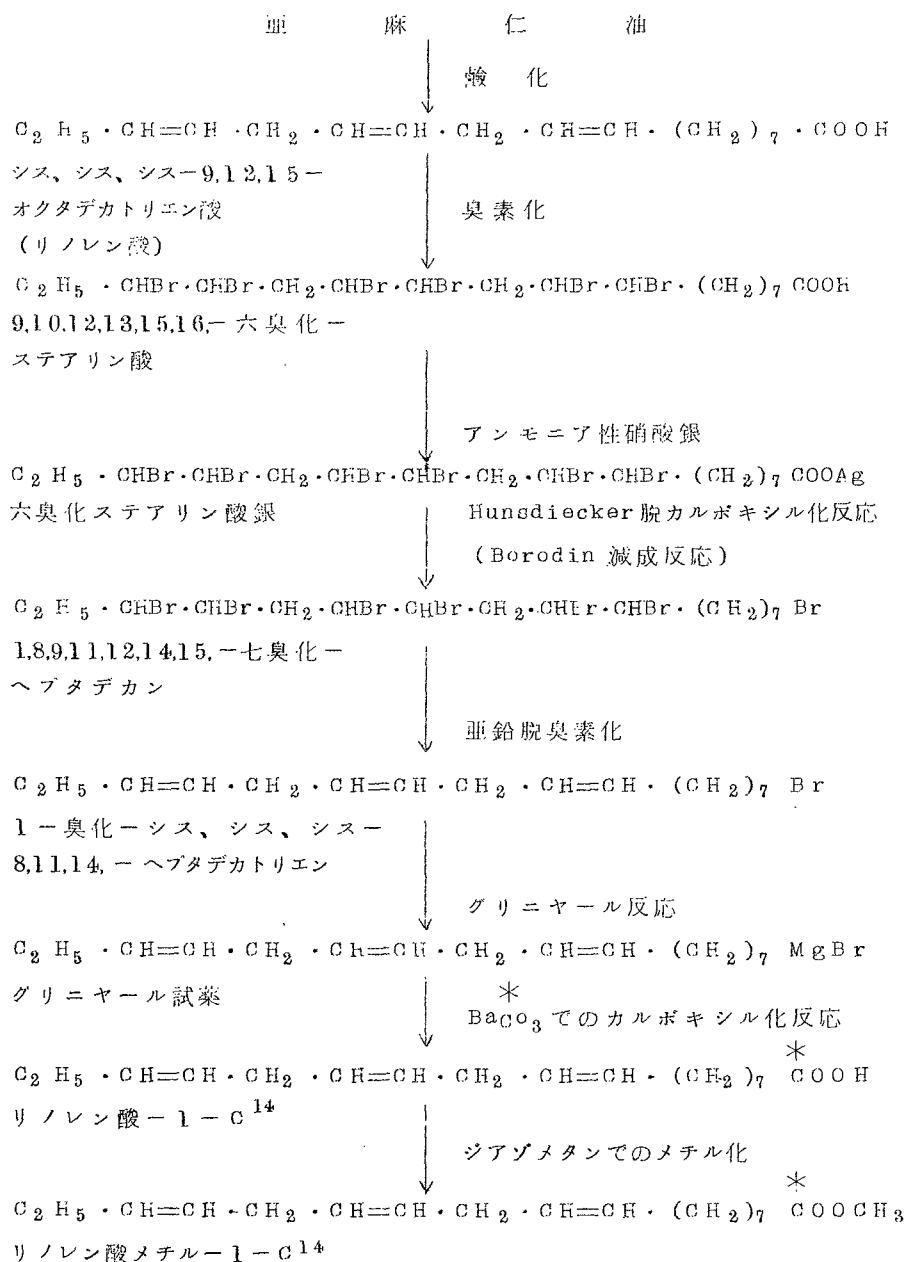
| アラキジン酸 (エイコサペンタエン酸を水添した) | | ベヘニン酸 (ドコサヘキサエン酸を水添した) | |
|-----------------------------|--------|---------------------------|--------|
| 減成産物 | dps/mm | 減成産物 | dps/mm |
| アラキジン酸 | 871 | ベヘニン酸 | 758 |
| C ₁ 安息香酸 | 57 | C ₁ 安息香酸 | 167 |
| C ₂ 安息香酸 | 18 | C ₂ 安息香酸 | 86 |
| C ₃ 安息香酸 | 557 | C ₃ 安息香酸 | 46 |
| マーガリン酸 | 235 | C ₄ 安息香酸 | 13 |
| | | C ₅ 安息香酸 | 310 |
| | | マーガリン酸 | 145 |

第5表 魚類から同定された多不飽和酸

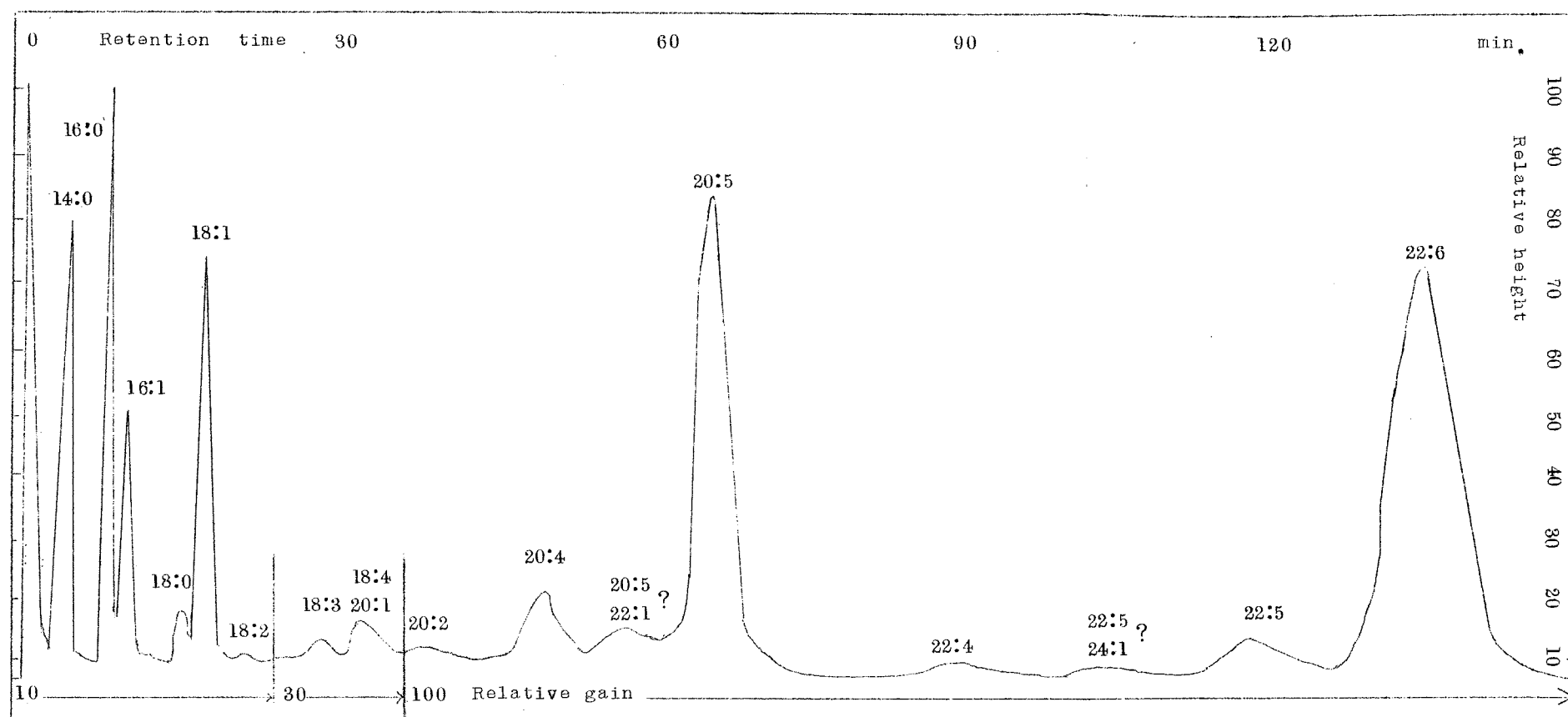
| 鎖 長 | 二重結合の数 | 二重結合の位置 | | 魚 種 |
|-------|--------|-----------------|----------------|--------------------------|
| | | カルボキシル炭素から数えた | メチル炭素から数えた | |
| ヘキサデカ | ジエン酸 | 9,12 | 4,7 | ニシン、メンハーデン |
| | | 7,10 | 6,9 | ニシン |
| | | 6,9 | 7,10 | ニシン、メンハーデン |
| | トリエン酸 | 9,12,15 | 1,4,7 | ニシン |
| | | 7,10,13 | 3,6,9 | ニシン、メンハーデン |
| | | 6,9,12 | 4,7,10 | ニシン、メンハーデン |
| | | 4,7,10 | 6,9,12 | ニシン |
| | テトラエン酸 | 6,9,12,15 | 1,4,7,10 | ニシン、ビルチヤード、メンハーデン |
| | | 4,7,10,13 | 3,6,9,12 | ニシン、メンハーデン |
| オクタデカ | ジエン酸 | 9,12 | 6,9 | ニシン、メンハーデン |
| | | 6,9 | 9,12 | メンハーデン |
| | トリエン酸 | 9,12,15 | 3,6,9 | ニシン、メンハーデン |
| | | 6,9,12 | 6,9,12 | メンハーデン |
| エイコサ | テトラエン酸 | 6,9,12,15 | 3,6,9,12 | ニシン、メンハーデン |
| | | | | |
| | ジエン酸 | 11,14 | 6,9 | メンハーデン |
| | | 8,11 | 9,12 | メンハーデン |
| | トリエン酸 | 8,11,14 | 6,9,12 | メンハーデン |
| | | 5,8,11 | 9,12,15 | メンハーデン |
| | テトラエン酸 | 8,11,14,17 | 3,6,9,12 | メンハーデン |
| | | 5,8,11,14 | 6,9,12,15 | メンハーデン、イワシ |
| ドコサ | ペンタエン酸 | 5,8,11,14,17 | 3,6,9,12,15 | タラ、ビルチヤード、メンハーデン |
| | | | | |
| | ヘキサエン酸 | 7,10,13,16,19 | 3,6,9,12,15 | タラ、ニシン、メンハーデン |
| | | 4,7,10,13,16 | 6,9,12,15,18 | サンマ |
| | | 4,7,10,13,16,19 | 3,6,9,12,15,18 | タラ、ニシン、ビルチヤード、メンハーデン、サンマ |
| | | | | |



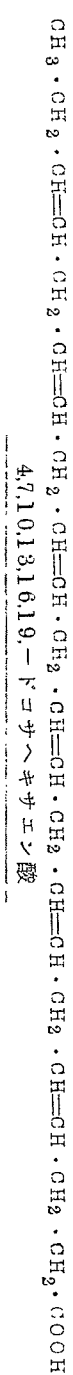
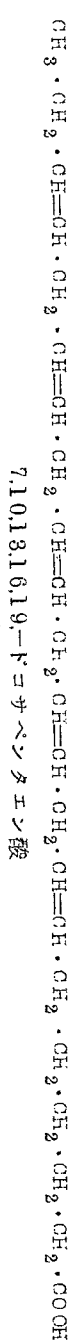
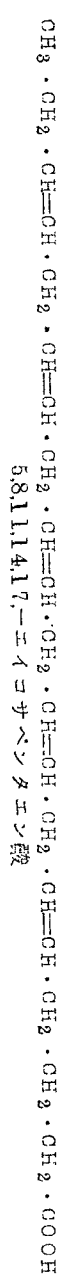
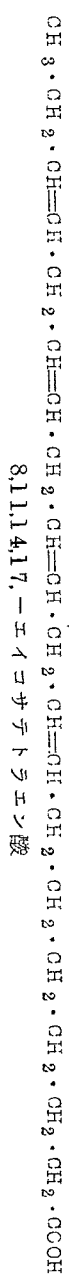
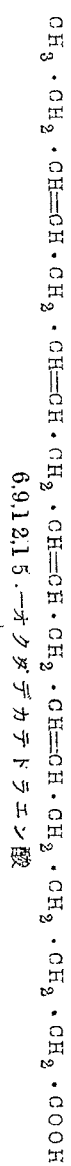
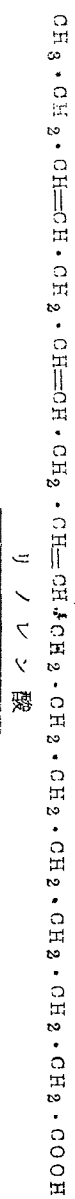
第1図 ティラピア油 から リノール酸、アラキドン酸の分離過程



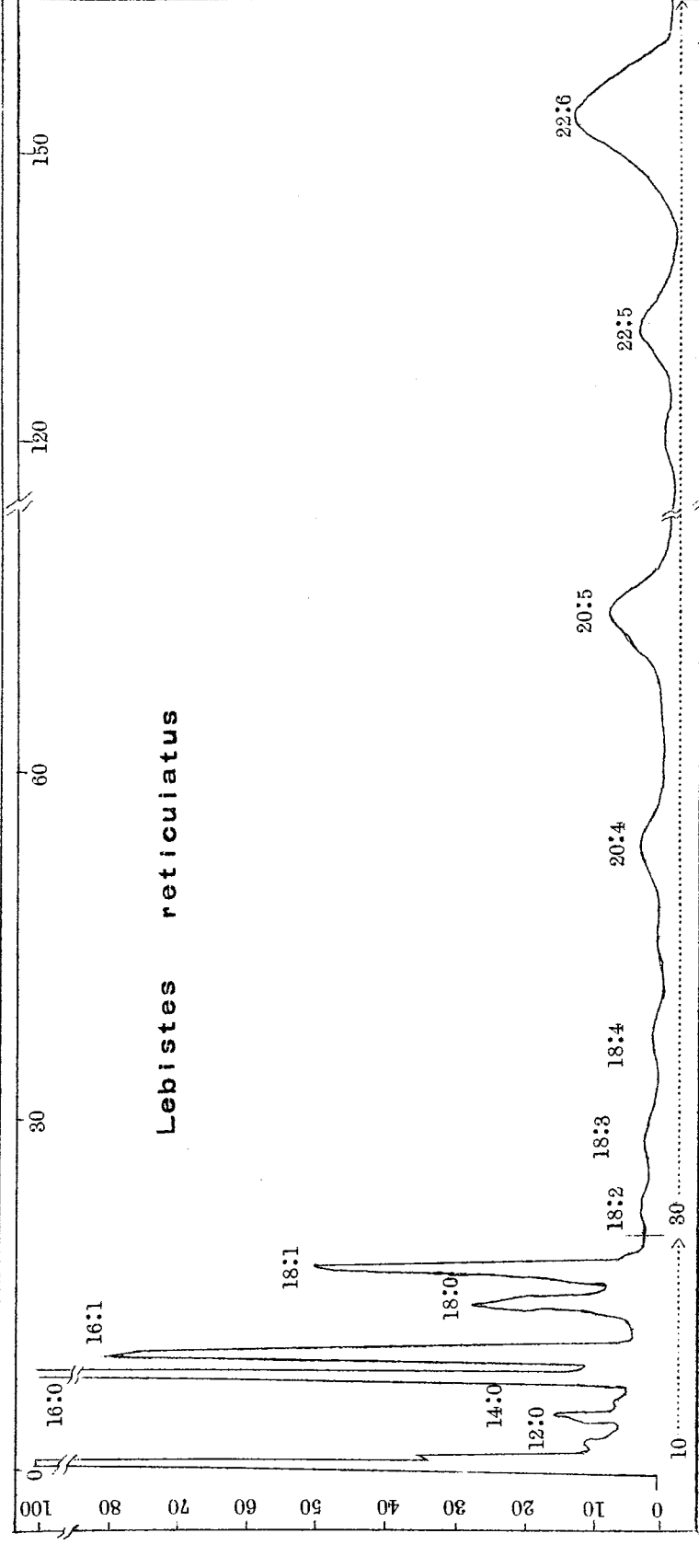
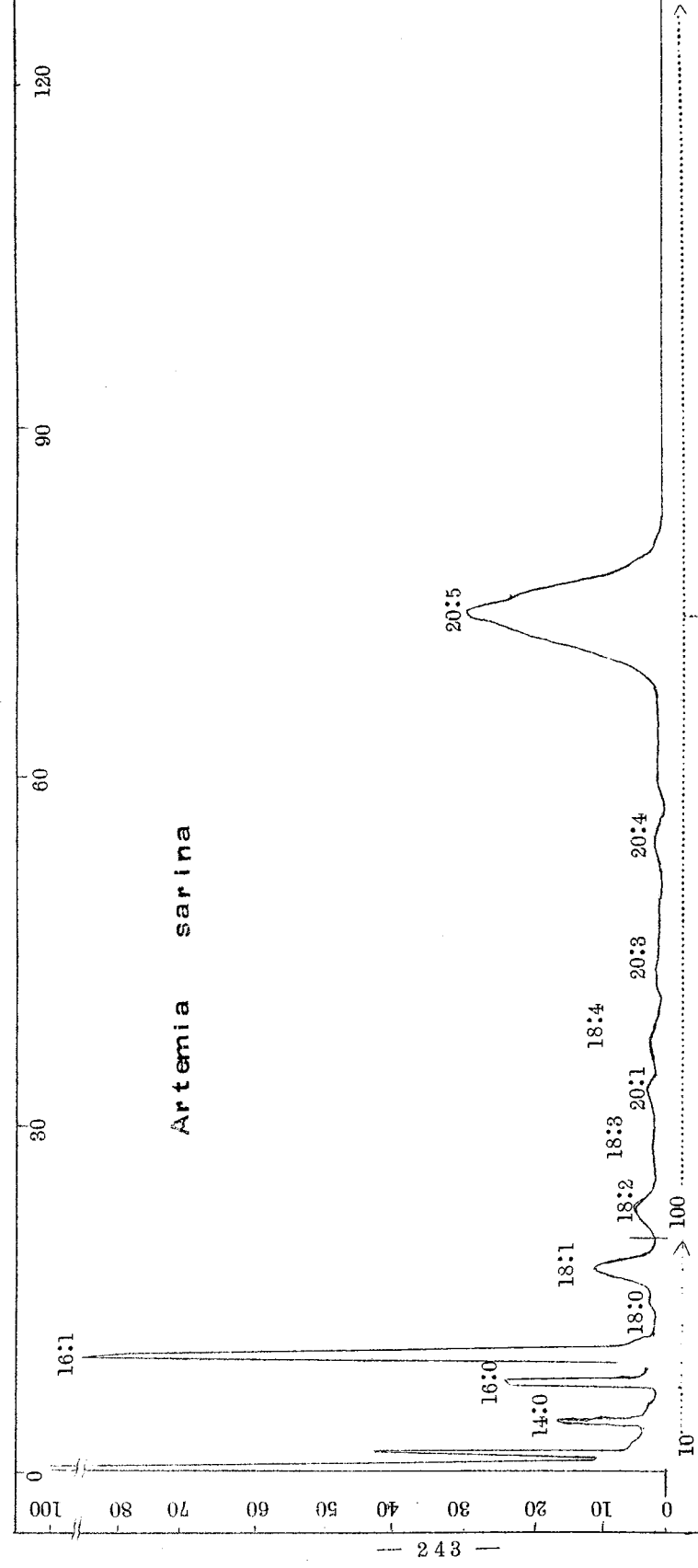
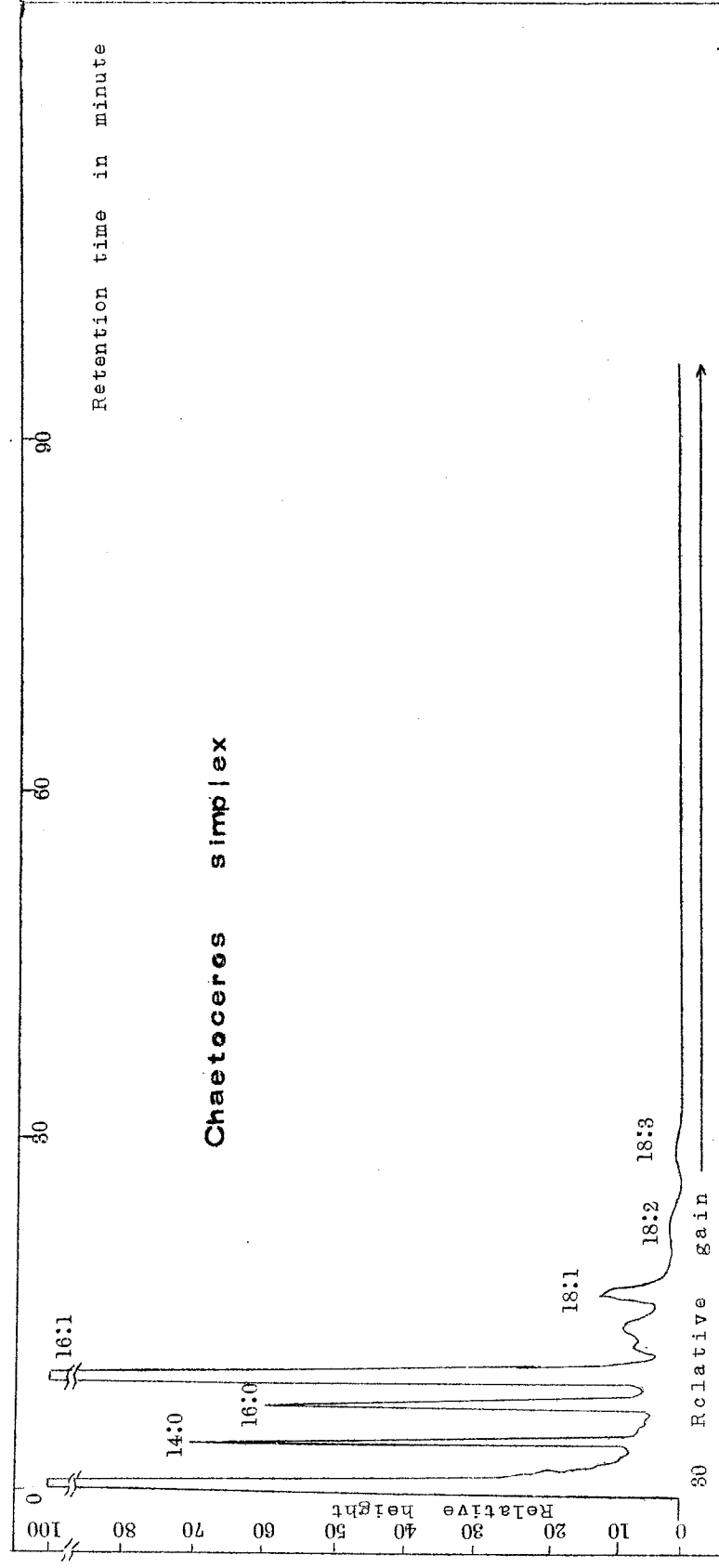
第 2 図 リノレン酸メチル-1-C¹⁴ の合成過程



第 3 図 Kelp bass 油のガスクロマトグラム：カラム温度 196℃ アルゴン流速 167ml/min.

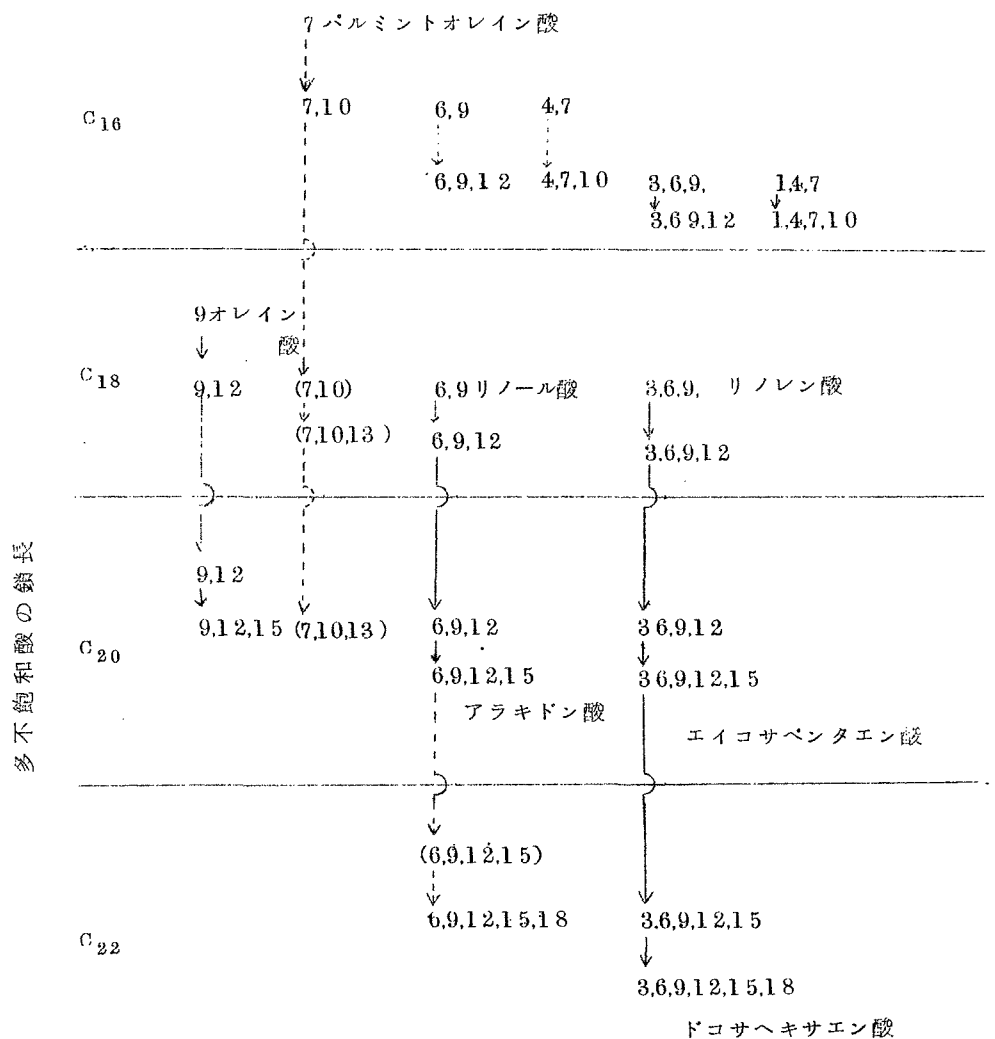


第4図 リノレン酸からエICOSAペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸への可能な変換経路



第5図 キトセラス, アルテミアおよびグッピーの脂肪酸組成を示すガスクロマトグラム

メチル炭素から数えた二重結合の位置



第 6 図 魚類における不飽和酸の可能な変換経路

審 査 結 果 の 要 旨

魚油は陸上動物のそれと違つて一般に高度不飽和脂肪酸に富むことを特長とするが従来の研究はそれら魚油の脂肪酸組成をしらべることに重点をおいて、生化学的研究特に不飽和脂肪酸の代謝については殆ど触れるところがなかつた。

蓋しその研究方法が甚だ困難であることに一つの原因があつたが、著者はウレタンで軽く麻酔した魚にポリエチレン、カテーテルを使つてその前腸に直接脂肪酸を注入する方法を考察して始めてステアリン酸- $1-C^{14}$ の魚体内吸収の状態を知ること成功した。即ち腸から吸収される脂肪酸は速かに各組織へ移行すると共に吸収は10～12時間で最高に達することを明にした。

一方無脂肪飼料に種々の植物油、不飽和脂肪酸及び飽和脂肪酸を添加して魚を飼育し、それらが魚体へ移行する状態および移つた油の脂肪酸変換の様相を研究して、移行と変換には添加油の質と量及び飼育水温が関係することを明にした。特に後者に関しては低温の方が高度不飽和酸への変換がより多く惹き起されるように見られた

次に魚体腹腔へ酢酸ソーダー- $1-C^{14}$ を注射し、酢酸から飽和脂肪酸及びモノエン酸が合成されること、しかしリノール酸は合成されないことを明にした。続いてリノレン酸メチル- $1-C^{14}$ の腹腔内注射を行い、リノレン酸がエイコサペンタエン酸及びドコサヘキサエン酸へ変換することを明にした。即ち魚油の特長成分である多不飽和脂肪酸はリノレン酸から変換して生ずることを始めて実証した。しかもその変換経路についてはリノレン酸、6・9・12・15-オクタデカテトラエン酸、8・11・14・17-エイコサテトラエン酸、次で5・8・11・14・17-エイコサペンタエン酸、7・10・13・16・19-ドコサペンタエン酸を経て4・7・10・13・16・19-ドコサヘキサエン酸へと進むであろうとその変換経路を提示した。

この結果は一方に於てリノール酸及びリノレン酸を先駆物質として魚油の多不飽和脂肪酸が植物プランクトン、動物プランクトン、小動物、魚といった水界に於ける一連の食物連鎖の過程を経て魚へ変換されながら取り込まれて行くであろうことを予想させるが、それを *Chastoceros simplex* を培養し *Artemia salina* に与え、更にそ

れをグツビイに与えることによつて確証することに成功した。

更に以上の結果及び既往の魚油から分離同定された不飽和脂肪酸の構造とを総合的に考察して、著者は新たに魚類における不飽和脂肪酸のいくつかの変換経路を提示した。

本研究により従来殆ど未開拓の分野であつた魚の脂肪酸代謝特に特長あるその不飽和脂肪酸の代謝経路を解明した点は単に魚類生化学のみならず、広く動物の脂肪酸代謝に対し重要な新知見を加えると共に、近年頗る盛んになつた人工飼料による魚の養殖に対しても亦寄与するところが大きいと考える。よつて本論文は農学博士の学位を授与するに値するものと判定する。